

## 대두발효식품의 암세포주에 대한 세포독성 조사

정건섭\* · 윤기도<sup>1</sup> · 권동진<sup>1</sup> · 홍석산<sup>1</sup> · 최신양<sup>1</sup>  
연세대학교 생물자원공학과, <sup>1</sup>한국식품개발연구원 생물공학연구부

**Cytotoxicity Testing of Fermented Soybean Products with Various Tumour Cells using MTT Assay. Kun-Sub Chung\*, Ki-Do Yoon, Dong-Jin Kwon, Seok-San Hong and Shin-Yang Choi.**  
\*Department of Biological Resources and Technology, Yonsei University, Wonju 220-710, Korea, Food Biotechnology Division, Korea Food Research Institute, Seongnam 463-420, Korea - To investigate the cytotoxicity of Korean traditional fermented soybean products using the MTT assay, we extracted soybean, *Kanjang*, *Doenjang*, *Kochujang*, and *Chongkukjang* with water, methanol, and hexane. Primary testing of cytotoxicity of 14 extracts was done for P388D1(mouse lymphoid neoplasm) and L1210(mouse leukemia) cell lines. *Doenjang* methanol extract, *Kochujang* hexane extract, *Chongkukjang* methanol extract, and *Chongkukjang* hexane extract showed cytotoxicity of 86.1, 94.3, 83.6, and 81.1%, respectively against P388D1, and showed cytotoxicity of 69.4, 96.9, 51.4, and 95.1%, respectively against L1210. All the other extracts showed less than 50% cytotoxicity. Methanol extracts of *Doenjang* and *Chongkukjang* showed dose-dependent cytotoxicity against P388D1, L1210, SNU-16 (human stomach cancer), HepG2(human hepatic cancer), WiDr(human colon cancer) cell lines, and IC<sub>50</sub> of *Doenjang* methanol extract was 67.7, 90.4, 1338.0, 706.4, and 371.2 µg/ml, respectively, and IC<sub>50</sub> of *Chongkukjang* methanol extract was 107.1, 228.3, 756.2, 1346.0, and 327.0 µg/ml, respectively.

대두 및 대두발효식품인 간장, 된장, 고추장, 청국장 등의 장류는 우수한 영양원일 뿐만 아니라 사람이 섭취할 경우 여러가지 생리활성을 나타내는 것으로 알려져 있다. 대두 및 대두발효식품의 생리활성으로는 고혈압 방지 효과, 항돌연변이성, 항암성, 혈전용해능, 혈중콜레스테롤 저하 효과 등이 보고되어 있는데, 이중 항암성에 대한 관심이 매우 높은 편이다. 대두발효식품의 항암성은 원료인 콩에서 유래하는 것과 발효과정에서 분해되거나 새롭게 합성되는 성분에 의해서 나타난다. 대두에서 유래하는 항암활성 물질로는 protease inhibitor(1-3), phytic acid(4, 5), isoflavones(6-8)등이 보고되어 있으며, 특히 genistein을 비롯한 대두 isoflavone 성분의 항암효과에 대한 연구는 현재도 큰 관심속에서 진행되고 있다(9).

대두 및 대두발효식품의 항암성에 대한 연구는 주로 일본을 중심으로 연구되어져 왔으며, 국내에서는 이에 대한 연구가 아직 초기단계에 있다. 일본된장(miso)의 섭취빈도와 위암에 의한 사망률에 대한 역학적 조사 결과 일본된장국 섭취빈도가 높을수록 위암에 의한 사망률이 저하되는 것으로 나타났으며, 이러한 경향은 연령별, 사회계층별, 지역별로 검토하여도 차이가 없었다고 한다. 또한, 일본 된장국을 매일 먹은 사람은 모든 종류의 암, 동맥경화성 심장질

환, 고혈압, 위십이지장 궤양, 간경변 등에 의한 사망률 모두가 낮은 것으로 나타났다고 한다(10). Benjamin 등(11, 12)은 일본간장을 생쥐에 투여할 경우 benzo(α)pyrene에 의해 유도되는 생쥐의 전위 종양을 억제한다고 보고하였으며, 그 후 Nagahara 등(13)은 일본간장의 주요 향미 성분인 4-hydroxy-2(or 5)-ethyl-5(or 2)-methyl-3(2H)-furanone(HEMF)이 benzo(α)pyrene에 의해 유도되는 생쥐의 전위 종양을 억제한다고 보고하였다. HEMF는 4 mg/kg체중으로 생쥐에 투여할 경우 종양을 유효하게 억제하는 것으로 나타났는데, HEMF는 일본 간장에 230 ppm으로 존재하며 생쥐에게 25 ppm 수준으로 투여할 경우 전위종양 발생수를 충분히 감소시켰다고 한다(14).

우리 전통장류의 생리활성에 대하여 허준은 동의보감에서 "장(醬)이 해독작용을 한다"라고 기록하고 있다. 전통장류의 생리활성에 대한 과학적인 연구로는 1980년대에 들어 항산화성(15), 항돌연변이성(16-17)에 대하여 보고된 바 있으나 아직 장류의 항암성에 대한 연구결과와 보고는 많이 되어 있지 못한 실정이다.

따라서, 본 논문에서는 대두발효식품인 간장, 된장, 고추장, 청국장 등의 *in vitro*계에서 암세포에 대한 세포독성실험을 수행하여 몇가지 결과를 얻었기에 이를 보고한다.

\*Corresponding author

Tel. 82-371-760-2252, Fax. 82-371-763-4323

E-mail: kschung@dragon.yonsei.ac.kr

Key words: Fermented soybean products, *Doenjang*, Cytotoxicity, MTT assay

## 재료 및 방법

### 시료 및 시료추출

간장, 된장, 고추장, 청국장시료는 우리나라 전통장류를 대표하는 시료를 선정하기 위하여 “농림부 전통식품 품질인증제도”에서 인증된 「순창골재래식품」(전라북도 순창 소재)에서 전통적인 방식으로 제조한 장류를 구입하여 -20℃에서 보관하면서 사용하였으며, 대두시료는 장류제조시에 사용한 국내산 대두를 사용하였다.

각 시료의 추출은 물, 메탄올, 헥산을 사용하여 다음과 같이 실시하였다. 시료에 추출용매를 10배(v/w) 첨가하여 믹서기로 잘 마쇄하고 7시간씩 3번 추출하였다. 이 추출액을 감압농축한 후 0.5% 이하의 dimethylsulfoxide (DMSO) 수용액에 용해시키고 제균여과하여 실험에 사용하였다.

### 시약

RPMI 1640, fetal bovine serum 등의 동물세포 배양을 위한 시약은 Life Technologies Inc.(U.S.A.)에서 구입하였으며, 세포독성 측정을 위한 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl) 2,5-diphenyl tetrazolium bromide(MTT)는 Aldrich Chem. Co.(U.S.A.)에서 구입하였다. 이외 시료 추출을 위한 용매나 기타 시약은 특급품 이상을 사용하였다.

### 동물세포

세포독성 측정을 위해 사용한 동물세포주는 한국세포주은행에서 구입한 HepG2(Hepatocellular carcinoma, human, ATCC HB-8065), L1210(Lymphocytic leukemia, mouse, ATCC CCL-219), P388D1(Lymphoid neoplasm, mouse, ATCC CCL-46), SNU-16(Stomach carcinoma, human, KCLB 00016), WiDr(Colon, adenocarcinoma, human, ATCC CCL-218)이었다.

### 동물세포 배양

동물세포는 56℃에서 30분간 열처리한 fetal bovine serum(FBS)을 10% 첨가한 RPMI 1640 배지에 100 units/ml의 penicillin/streptomycin과 20 mM HEPES buffer를 첨가하여 37℃, 5% CO<sub>2</sub> 배양기에서 배양하였다.

### 세포독성 측정

동물세포에 대한 시료의 세포독성을 측정하기 위하여 Carmichael 등(18)의 방법에 따라 MTT assay를 실시하였다. 동물세포를 96 well plate에 1×10<sup>4</sup> cells/well이 되게 180 μl 분주하고 시료를 일정농도로 제조하여 20 μl 첨가하여 37℃, 5% CO<sub>2</sub> 배양기에서 96시간 배양하였다(P388D1, L1210 cell은 48시간 배양하였음). 여기에 인산생리식염수에 5 mg/ml의 농도로 제조한 MTT 용액 20 μl를 첨가하고 동 배양조건에서 4시간 더 배양하였다. 이를 2,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 상정액을 제

거하고, 각 well 당 DMSO 150 μl를 가하여 30분간 교반한 후 ELISA reader(Molecular Device Co.)로 550 nm에서 흡광도를 측정하여 성장억제효과(Growth inhibitory effect(%))=[(대조구의 흡광도-시료처리구의 흡광도)/대조구의 흡광도]×100를 구하여 세포독성 활성의 지표로 하였다. 또한, 암세포의 성장을 대조구에 비하여 50% 억제하는 시료의 농도를 IC<sub>50</sub>으로 나타내었다. 대조구는 시료대신 증류수를 첨가한 것으로 하였다.

## 결과 및 고찰

### 시료의 추출

전통장류의 *in vitro*계에서 동물 암세포주에 대한 세포독성을 측정하기 위하여 간장, 된장, 고추장 및 청국장을 물, 메탄올, 헥산 등의 각 용매 극성별로 추출하였다. 시료의 종류에 따라 물 추출물은 14.9~40.3%의 추출률을 보였고, 메탄올 추출물은 9.0~43.3%의 비교적 높은 추출률을 보였으나 hexane 추출물은 1.2% 이하의 낮은 추출률을 보였다.

### 장류 추출물들의 세포독성 1차 스크리닝

대두 및 대두발효식품인 간장, 된장, 고추장, 청국장 등

**Table 1. Comparison of inhibitory effect of extracts<sup>1)</sup> from fermented soybean products on the growth of P388D1 and L1210 cells using MTT assay**

Extracts	Growth inhibition rate (%)	
	P388D1 cells	L1210 cells
<b>Soybean</b>		
Water extract	21.5	34.6
Methanol extract	11.0	18.7
Hexane extract	2.6	25.0
<b>Kanjang</b>		
Kanjang	<sup>2)</sup>	-
Hexane extract	9.6	14.1
<b>Doenjang</b>		
Water extract	14.5	30.6
Methanol extract	86.1	64.6
Hexane extract	-	26.1
<b>Kochujang</b>		
Water extract	-	23.9
Methanol extract	4.8	36.0
Hexane extract	94.3	96.9
<b>Chongkukjang</b>		
Water extract	-	5.4
Methanol extract	83.6	51.4
Hexane extract	81.1	95.1

<sup>1)</sup>The concentration of the extracts was 250 μg/ml. <sup>2)</sup>means that the extract did not show growth inhibitory effect. P388D1; mouse lymphoid neoplasm (ATCC CCL-46), L1210; mouse lymphocytic leukemia (ATCC CCL-219).

의 용매 추출물의 세포독성을 mouse lymphoid neoplasm 인 P388D1 cell, mouse leukemia인 L1210 cell을 이용하여 실시하였다. 각 시료의 용매추출물이 P388D1과 L1210의 성장에 미치는 영향을 Table 1에 나타내었다.

된장 메탄올 추출물, 고추장 핵산 추출물, 청국장 메탄올 추출물, 청국장 핵산 추출물은 250 µg/ml의 처리농도에서 P388D1에 대해 각각 86.1, 94.3, 83.6, 81.1%의 성장억제효과를 나타내었으며, 대두 물 추출물, 대두 메탄올 추출물, 대두 핵산 추출물, 간장 핵산 추출물, 된장 물 추출물, 고추장 메탄올 추출물 등은 2.6~21.5%의 성장억제효과를 나타내었다. 그러나, 간장, 된장 핵산 추출물, 고추장 물 추출물, 청국장 물 추출물 등은 P388D1의 성장을 억제하지 않는 것으로 나타났다.

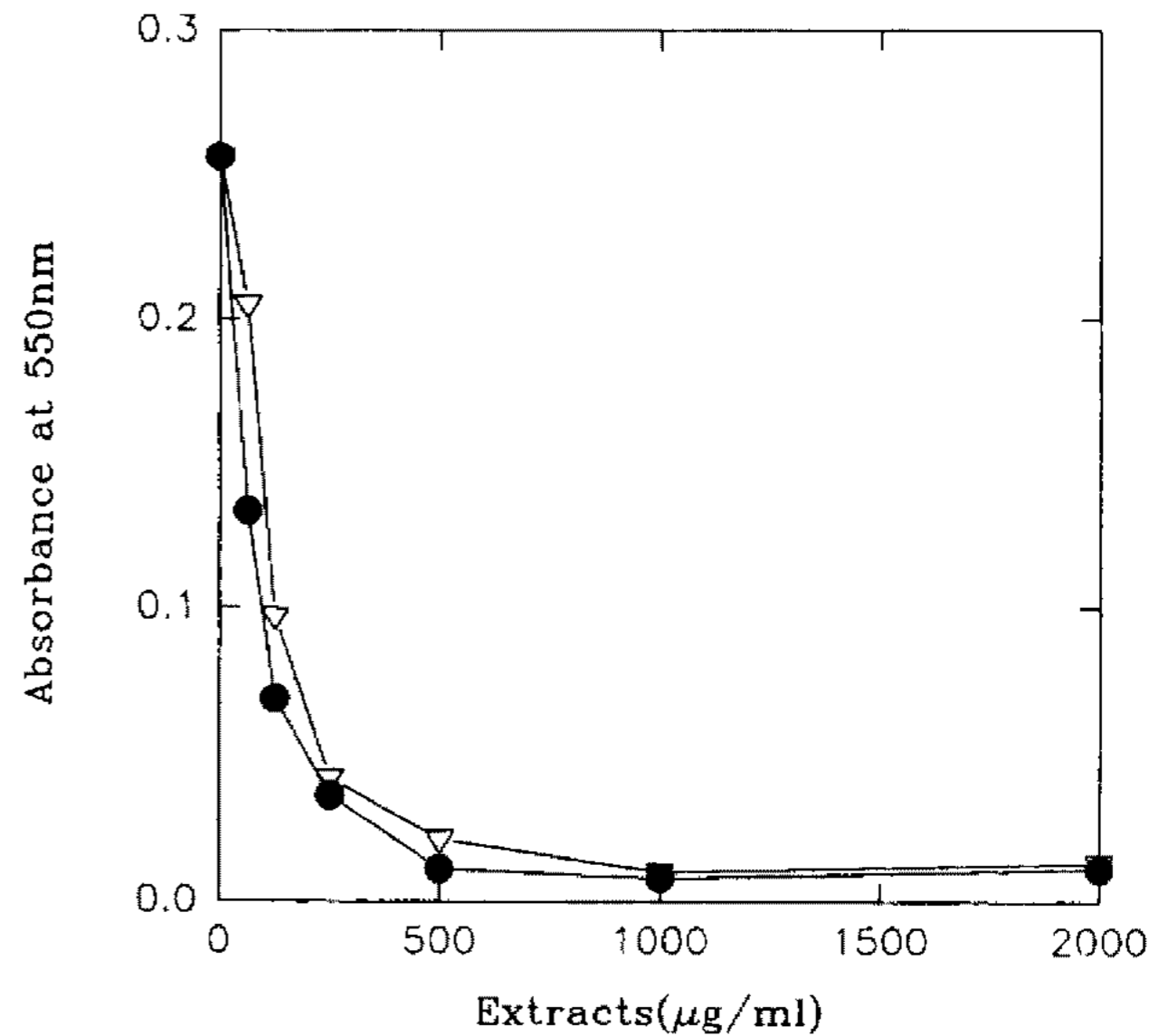
된장 메탄올 추출물, 고추장 핵산 추출물, 청국장 메탄올 추출물, 청국장 핵산 추출물은 250 µg/ml의 처리농도에서 L1210에 대해 각각 69.4, 96.9, 51.4, 95.1%의 성장억제효과를 나타내었으며, 대두 물 추출물, 대두 메탄올 추출물, 대두 핵산 추출물, 간장 핵산 추출물, 된장 물 추출물, 된장 핵산 추출물, 고추장 물 추출물, 고추장 메탄올 추출물, 청국장 물 추출물 등은 5.4~36.0%의 성장억제효과를 나타내었다. 그러나 간장은 L1210의 성장을 억제하지 않는 것으로 나타났다.

용매의 극성에 따른 시료 추출물중 중간 극성을 지닌 메탄올 추출물의 세포독성이 비교적 높게 나타났고, 비극성인 핵산 추출물은 시료에 따라 성장억제효과에 큰 차이를 보인 반면, 극성이 높은 물 추출물은 거의 성장억제효과를 나타내지 않았다. 대두 추출물보다 대두발효식품인 된장, 청국장 등의 성장억제효과가 높게 나타난 것으로 보아 장류 발효과정 중에서 세포독성을 나타내는 물질이 생성되는 것으로 추측된다.

**된장 및 청국장 메탄올 추출물의 세포독성**

시료 및 용매 종류별로 제조된 14가지 추출물 중 된장 메탄올 추출물, 고추장 핵산 추출물, 청국장 메탄올 추출물, 청국장 핵산 추출물 등 4가지 추출물들이 250 µg/ml의 처리농도에서 P388D1과 L1210의 성장을 50% 이상 억제하는 것으로 나타났다. 이중 시료의 추출물이 비교적 높은 된장 메탄올 추출물과 청국장 메탄올 추출물을 대상으로 그 처리농도에 따른 mouse lymphoid neoplasm인 P388D1과 mouse leukemia인 L1210, 사람의 위암, 간암, 대장암에서 각각 유래된 SNU-16, HepG2, WiDr 세포주에 대한 성장억제효과를 조사하였다.

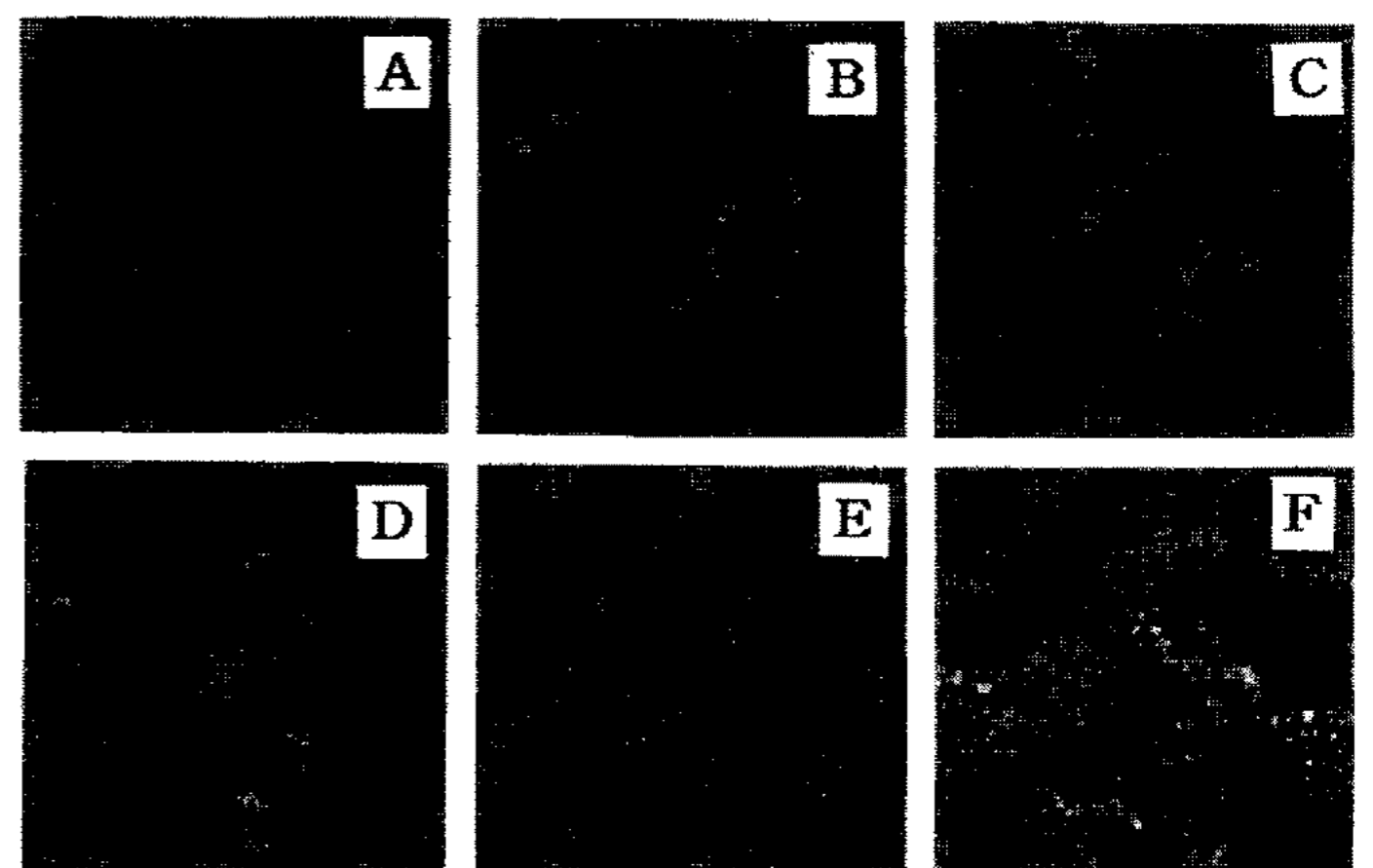
된장 메탄올 추출물과 청국장 메탄올 추출물 처리농도가 P388D1의 성장에 미치는 영향을 Fig. 1에 나타내었다. 된장 메탄올 추출물은 62.5 µg/ml의 농도에서 P388D1의 성장을 47.9% 억제하였고, 추출물의 농도가 증가할수록 억제효과가 점차 증가하다가 500 µg/ml의 농



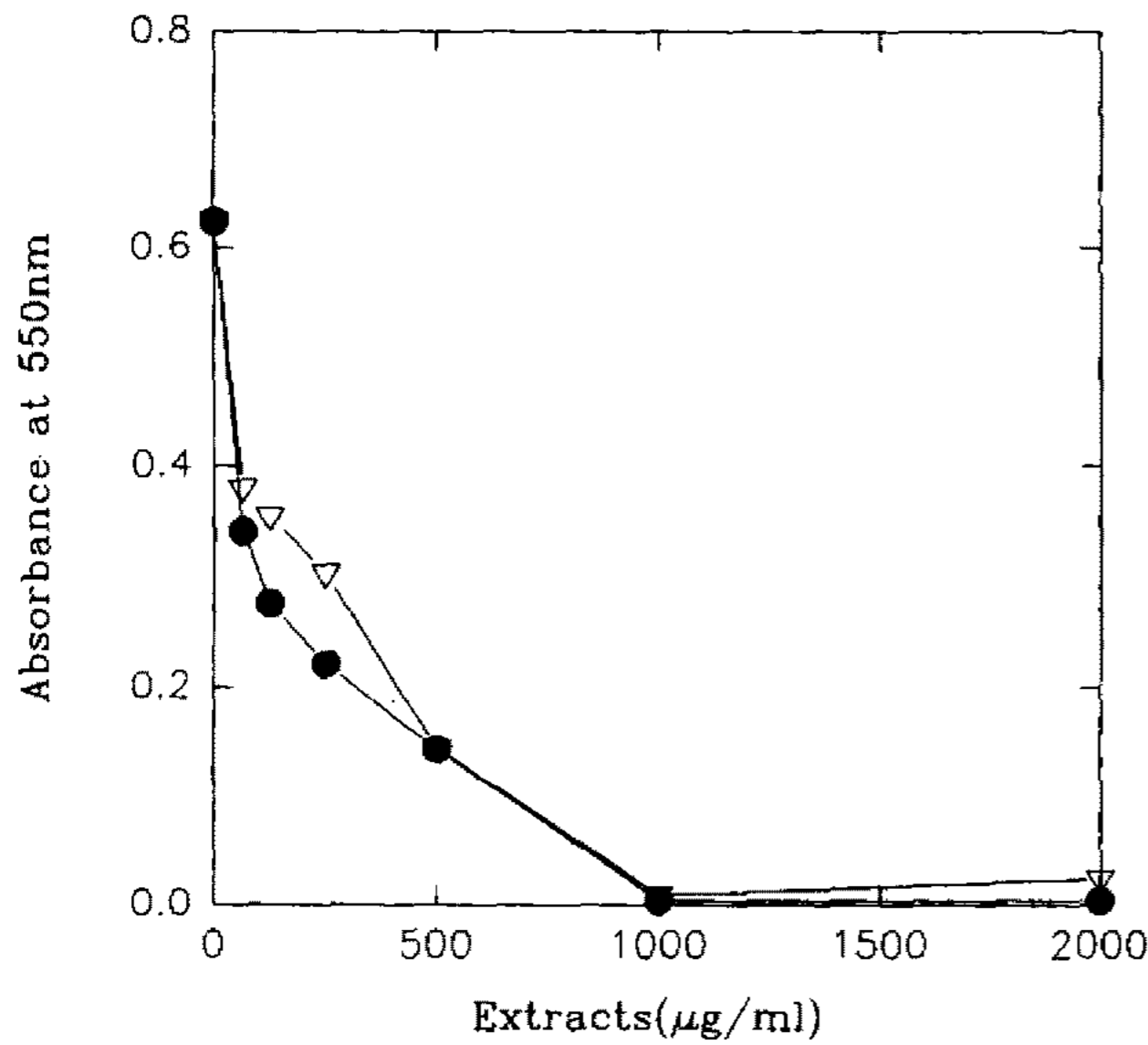
**Fig. 1. Effect of Doenjang and Chongkukjang methanol extracts on the growth of P388D1 (mouse lymphoid neoplasm) cells.**  
The incubation was carried out at 37°C for 2 days, and then the growth was measured absorbance at 550 nm after MTT assay. ●; Doenjang, ▽; Chongkukjang.

도에서 95.7% 억제하였으며, 이후에는 일정한 수준을 유지하였다. 청국장 메탄올 추출물은 62.5 µg/ml의 농도에서 P388D1의 성장을 20.1% 억제하였고, 추출물의 농도가 증가할수록 억제효과가 점차 증가하다가 500 µg/ml의 농도에서 91.7% 억제하였으며, 이후에는 일정한 수준을 유지하였다. 된장 메탄올 추출물과 청국장 메탄올 추출물의 IC<sub>50</sub>은 각각 67.7 µg/ml, 107.1 µg/ml로 나타났다. 된장 메탄올 추출물 처리에 따른 세포의 형태변화를 관찰한 결과 처리농도가 증가할수록 P388D1의 세포형태가 점차 변형되는 것을 확인하였다(Fig. 2).

된장 메탄올 추출물과 청국장 메탄올 추출물 처리농도



**Fig. 2. Morphology of P388D1 (mouse lymphoid neoplasm) cells treated with Doenjang and methanol extracts.**  
A; control, B; 125 µg/ml, C; 250 µg/ml, D; 500 µg/ml, E; 1 µg/ml, F; 2 µg/ml.



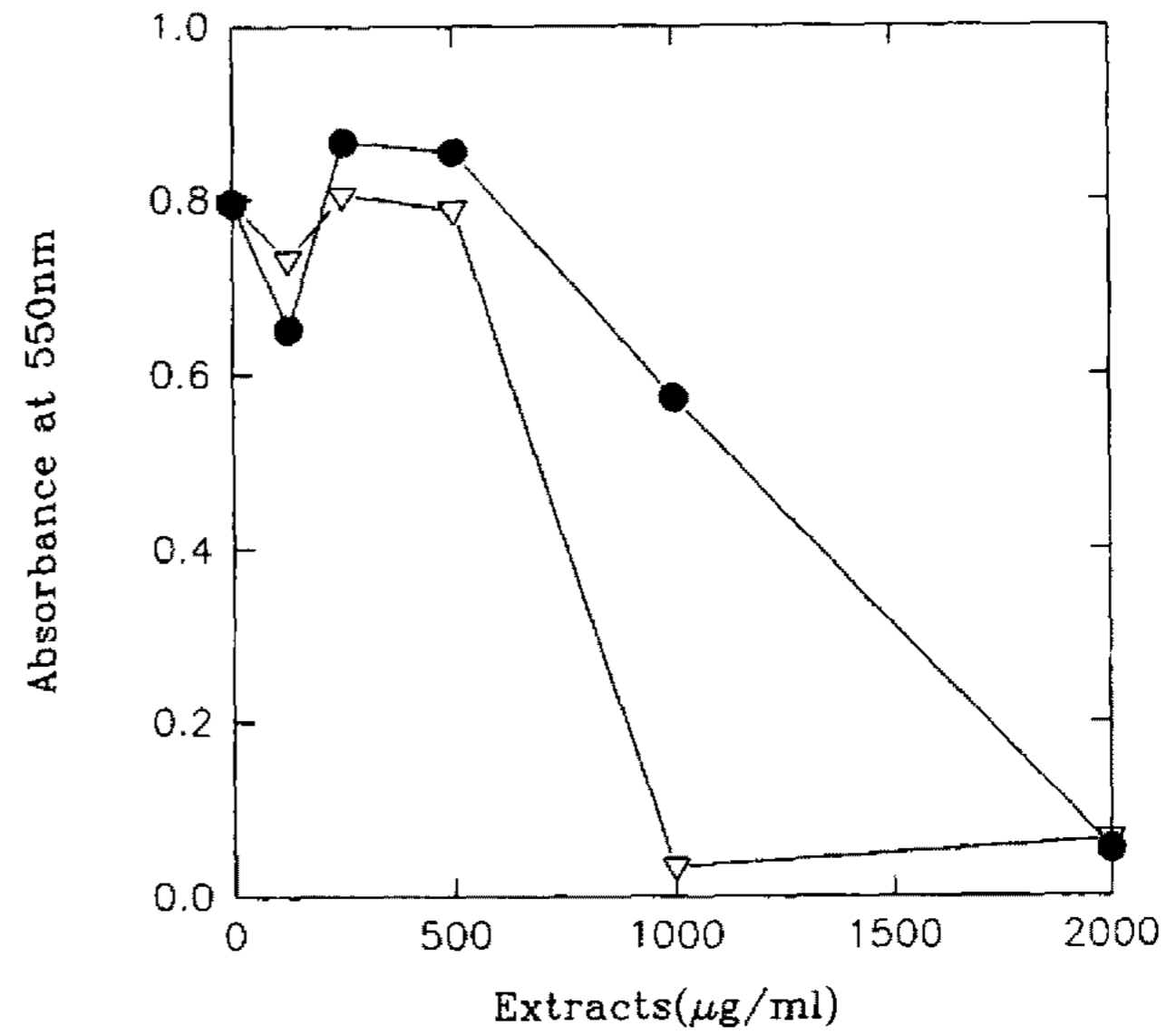
**Fig. 3.** Effect of *Doenjang* and *Chongkukjang* methanol extracts on the growth of L1210 (mouse lymphocytic leukemia) cells.

The incubation was carried out at 37°C for 2 days, and then the growth was measured absorbance at 550nm after MTT assay. ●; *Doenjang*, ▽; *Chongkukjang*.

가 L1210의 성장에 미치는 영향을 Fig. 3에 나타내었다. 된장 메탄올 추출물은 62.5 µg/ml의 농도에서 L1210의 성장을 45.3% 억제하였고, 추출물의 농도가 증가할수록 억제효과가 점차 증가하다가 1,000 µg/ml의 농도에서 99.4% 억제하였으며, 이후에는 일정한 수준을 유지하였다. 청국장 메탄올 추출물은 62.5 µg/ml의 농도에서 L1210의 성장을 39.2% 억제하였고, 추출물의 농도가 증가할수록 억제효과가 점차 증가하다가 1,000 µg/ml의 농도에서 98.6% 억제하였으며, 이후에는 일정한 수준을 유지하였다. 된장 메탄올 추출물과 청국장 메탄올 추출물의 IC<sub>50</sub>은 각각 90.4 µg/ml, 228.3 µg/ml로 나타났다.

남 등(19)은 60종의 생약 메탄올 추출물을 대상으로 L1210에 대한 1차 스크리닝 실험에서 산국(*Chrysanthemum boreale*), 주목(*Taxus cuspidata*)잎 등의 IC<sub>50</sub>이 각각 6.40, 15.52 µg/ml이라고 밝힌 바 있는데, 된장 메탄올 추출물과 청국장 메탄올 추출물의 IC<sub>50</sub>은 이보다 높은 값을 나타내어 암세포 성장억제효과는 상기의 생약 추출물보다는 낮은 것으로 나타났다. 그러나, 이 등(20)이 초산균체 추출물의 L1210에 대한 성장억제효과를 조사한 결과 초산균체 추출물 2,000 µg/ml의 처리농도에서 81%의 성장억제효과를 나타내었다는 것과 비교하면 된장 메탄올 추출물과 청국장 메탄올 추출물의 성장억제효과가 초산균체 추출물보다는 높은 것으로 밝혀졌다.

된장 메탄올 추출물과 청국장 메탄올 추출물 처리농도가 사람의 위암세포인 SNU-16의 성장에 미치는 영향을 Fig. 4에 나타내었다. 된장 메탄올 추출물은 125 µg/ml의 농도에서 SNU-16의 성장을 18.2% 억제하였고, 250,



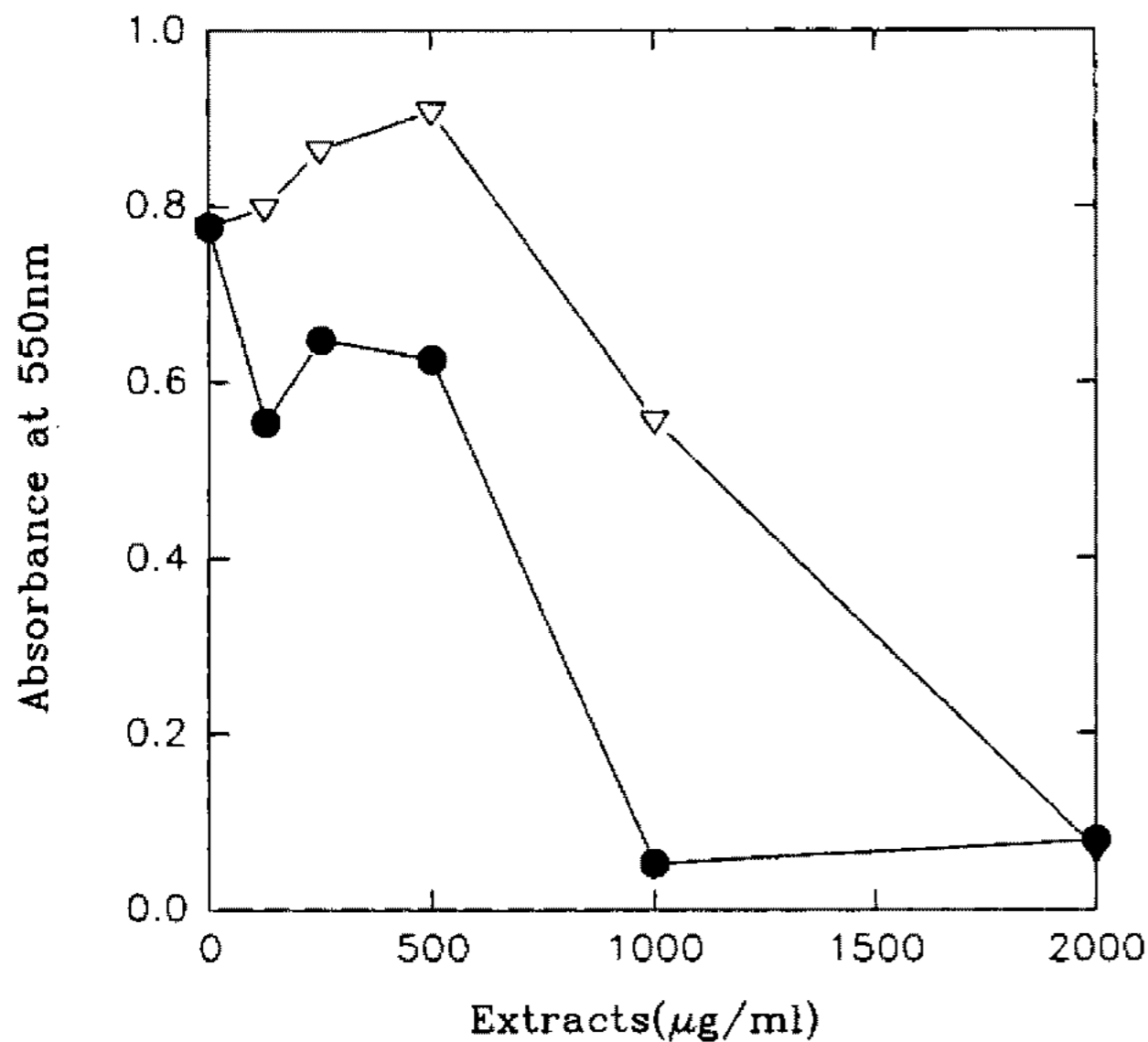
**Fig. 4.** Effect of *Doenjang* and *Chongkukjang* methanol extracts on the growth of SNU-16 (human stomach carcinoma) cells.

The incubation was carried out at 37°C for 4 days, and then the growth was measured absorbance at 550nm after MTT assay. ●; *Doenjang*, ▽; *Chongkukjang*.

500 µg/ml의 농도에서는 일부 성장을 촉진하는 것으로 나타났으나 1,000 µg/ml 이상에서는 다시 성장을 억제하였으며 2,000 µg/ml의 농도에서 93.2%의 억제효과를 나타내었다. 청국장 메탄올 추출물은 125 µg/ml의 농도에서 SNU-16의 성장을 8.2% 억제하였고, 250 µg/ml의 농도에서는 일부 성장을 촉진하는 것으로 나타났으나, 1,000 µg/ml의 농도에서 95.7% 억제하였으며, 이후에는 일정한 수준을 유지하였다. 된장 메탄올 추출물과 청국장 메탄올 추출물의 IC<sub>50</sub>은 각각 1,338 µg/ml, 756.2 µg/ml로 나타났다.

된장 메탄올 추출물과 청국장 메탄올 추출물 처리농도가 사람의 간암세포인 HepG2의 성장에 미치는 영향을 Fig. 5에 나타내었다. 된장 메탄올 추출물은 125 µg/ml의 농도에서 HepG2의 성장을 29.9% 억제하였고, 250, 500 µg/ml의 농도에서는 성장억제효과가 일부 감소하였으나 1,000 µg/ml의 농도에서 93.3% 억제하였으며, 이후에는 일정한 수준을 유지하였다. 청국장 메탄올 추출물은 500 µg/ml 이하의 농도에서 일부 성장을 촉진하는 것으로 나타났으나, 1,000 µg/ml 이상의 농도에서는 점차 억제하였으며, 2,000 µg/ml의 농도에서 91.2% 억제하였다. 된장 메탄올 추출물과 청국장 메탄올 추출물의 IC<sub>50</sub>은 각각 706.4 µg/ml, 1,346 µg/ml로 나타났다.

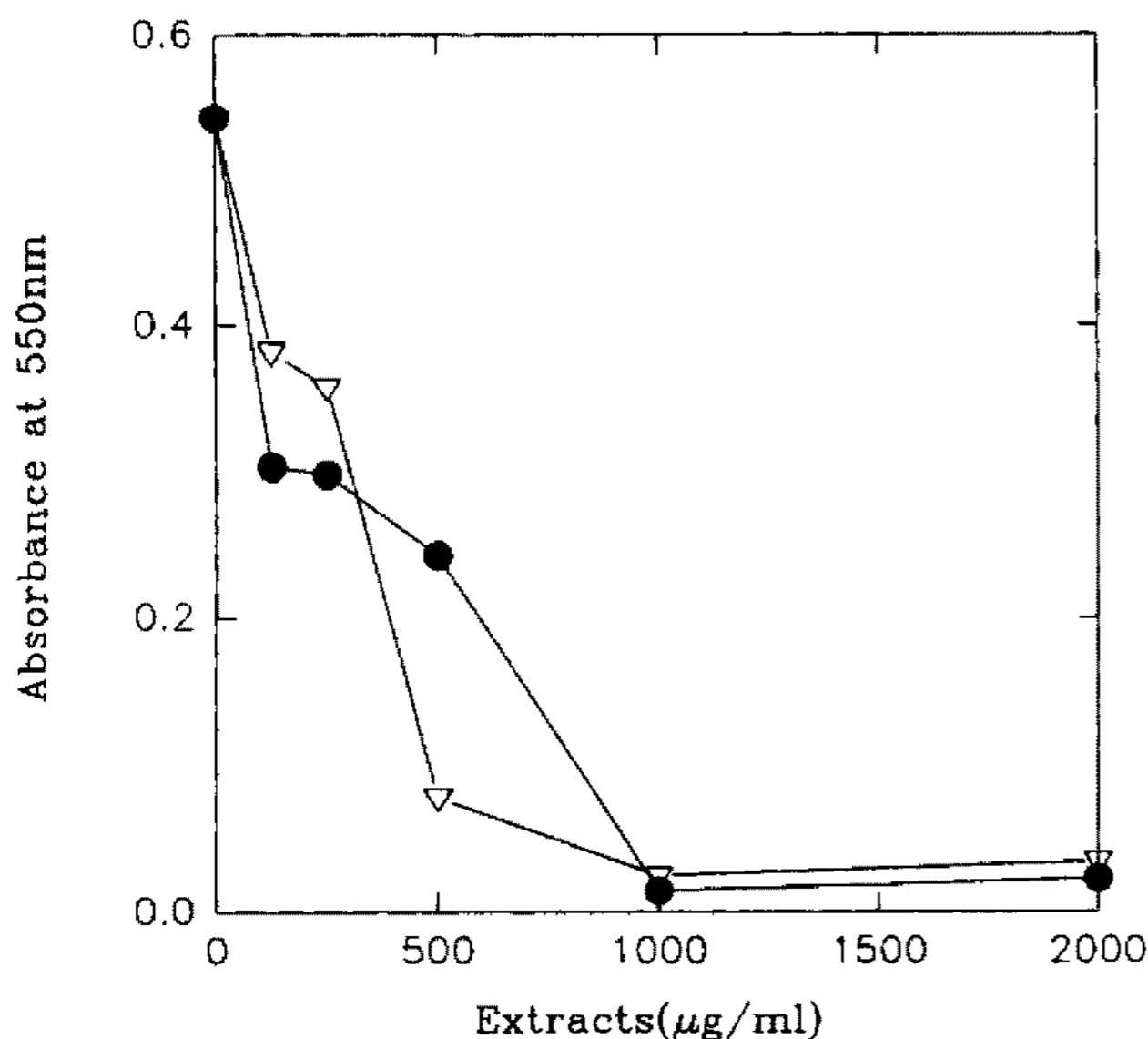
된장 메탄올 추출물과 청국장 메탄올 추출물 처리농도가 WiDr의 성장에 미치는 영향을 Fig. 6에 나타내었다. 된장 메탄올 추출물은 125 µg/ml의 농도에서 WiDr의 성장을 44.2% 억제하였고, 추출물의 농도가 증가할수록 억제효과가 점차 증가하다가 1,000 µg/ml의 농도에서



**Fig. 5.** Effect of *Doenjang* and *Chongkukjang* methanol extracts on the growth of HepG2 (human hepatocellular carcinoma) cells.

The incubation was carried out at 37°C for 4 days, and then the growth was measured absorbance at 550nm after MTT assay. ●; *Doenjang*, ▽; *Chongkukjang*.

97.2% 억제하였으며, 이후에는 일정한 수준을 유지하였다. 청국장 메탄올 추출물은 125 µg/ml의 농도에서 WiDr의 성장을 29.7% 억제하였고, 추출물의 농도가 증가할수록 억제효과가 점차 증가하다가 1,000 µg/ml의 농도에서 95.4% 억제하였으며, 이후에는 일정한 수준을 유지하였다. 된장 메탄올 추출물과 청국장 메탄올 추출물의 IC<sub>50</sub>은 각각 371.2 µg/ml, 327.0 µg/ml로 나타났다.



**Fig. 6.** Effect of *Doenjang* and *Chongkukjang* methanol extracts on the growth of WiDr (human colon adenocarcinoma) cells.

The incubation was carried out at 37°C for 4 days, and then the growth was measured absorbance at 550nm after MTT assay. ●; *Doenjang*, ▽; *Chongkukjang*.

**Table 2.** Comparison of cytotoxicity of *Doenjang* and *Chongkukjang* methanol extracts with various tumour cells using MTT assay

Methanol extract	Cytotoxicity (IC <sub>50</sub> , µg/ml)				
	Mouse cell lines		Human cell lines		
	P388D1	L1210	SNU-16	HepG2	WiDr
<i>Doenjang</i>	67.7	90.4	1,338.0	706.4	371.2
<i>Chongkukjang</i>	107.1	228.3	756.2	1,346.0	327.0

P388D1; mouse lymphoid neoplasm (ATCC CCL-46), L1210; mouse lymphocytic leukemia (ATCC CCL-219), SNU-16; human stomach carcinoma (KCLB 00016), HepG2; human hepatocellular carcinoma (ATCC HB-8065), WiDr; human colon adenocarcinoma (ATCC CCL-218).

위의 실험결과에서 된장 메탄올 추출물과 청국장 메탄올 추출물은 쥐의 암세포 P388D1, L1210과 사람의 암세포 SNU-16, HepG2, WiDr 모두에 대해 성장억제효과를 나타내는 것으로 나타났으며, 이를 Table 2에 요약하였다.

된장 메탄올 추출물은 쥐의 암세포에 대해서 청국장 메탄올 추출물보다 더 높은 성장억제효과를 나타내었다. 그리고, 된장 메탄올 추출물과 청국장 메탄올 추출물은 사람의 암세포보다 쥐의 암세포의 성장을 더 잘 억제하는 것으로 나타났다. 사람의 암세포에 대해서 된장 메탄올 추출물은 대장암세포(WiDr)>간암세포(HepG2)>위암세포(SNU-16)의 순으로 성장억제효과를 나타내었고, 청국장 메탄올 추출물은 대장암세포(WiDr)>위암세포(SNU-16)>간암세포(HepG2)의 순으로 성장억제효과를 나타내었다.

대두 및 대두발효식품의 항암성에 대한 국외의 연구는 대두관련식품 섭취와 암으로 인한 사망률과의 상관관계를 역학적으로 조사하는 방법(10), 암세포에 대한 성장억제효과를 조사하는 *in vitro* assay(8), 동물실험을 통한 *in vivo* assay(11) 등이 진행되어 왔다. 한편, 우리의 전통장류에 대한 연구에서는 윤 등(21)의 보고에 따르면 돌연변이원의 작용을 억제함으로써 암발생(initiation)을 예방하는 것으로 나타났으며, 본 연구에서는 전통장류가 *in vitro* assay에서 암세포주의 성장을 억제하는 효과가 있음을 확인하였다. 따라서 앞으로 암세포주에 대한 세포독성을 나타내는 물질을 분리 정제하여 그 구조를 밝히고, 동물실험을 통한 *in vivo* assay 확인 연구가 진행되어야만 우리 전통장류의 항암성을 확실히 밝힐 수 있을 것으로 사료된다.

### 요 약

대두발효식품의 *in vitro*계에서 동물 암세포주에 대한 세포독성을 조사하기 위하여 대두, 간장, 된장, 고추장 및

청국장을 물, 메탄올, 헥산 등의 용매로 추출하여 추출물의 암세포에 대한 성장억제효과를 MTT 방법으로 측정하였다. 14종류의 용매 추출물들의 세포독성 1차 스크리닝을 P388D1(mouse lymphoid neoplasm)과 L1210(mouse leukemia) 세포주를 이용하여 실시한 결과, 된장 메탄올 추출물, 고추장 헥산 추출물, 청국장 메탄올 추출물, 청국장 헥산 추출물들이 P388D1 세포주에 대해 각각 86.1, 94.3, 83.6, 81.1%의 성장억제효과를 나타내었고, L1210 세포주에 대해서는 각각 69.4, 96.9, 51.4, 95.1%의 성장억제효과를 나타내었으나, 다른 추출물들은 50% 이하의 성장억제효과를 나타내었다. 시료의 추출률이 비교적 높은 된장 메탄올 추출물과 청국장 메탄올 추출물을 대상으로 그 처리농도에 따라 P388D1, L1210, 사람의 위암, 간암, 대장암에서 각각 유래된 SNU-16, HepG2, WiDr 세포주에 대한 성장억제효과를 조사한 결과 처리농도가 증가함에 따라 성장억제효과가 높은 것으로 나타났으며, IC<sub>50</sub>은 된장 메탄올 추출물의 경우 각각 67.7, 90.4, 1338.0, 706.4, 371.2 µg/ml, 청국장 메탄올 추출물의 경우 각각 107.1, 228.3, 756.2, 1346.0, 327.0 µg/ml로 나타났다.

### 감사의 글

본 연구는 농림부의 농림수산물특정과정 연구비에 의하여 수행된 내용의 일부로 지원에 감사드립니다.

### 참고문헌

- Kennedy, A. R. and Little, J. B. 1981. Effects of protease inhibitors on radiation transformation *in vitro*. *Cancer Res.*, **41**: 2103.
- Yavelow, J., Finlay, T. H., Kennedy, A. R. and Troll, W. 1983. Bowman-Birk soybean protease inhibitor as an anticarcinogen. *Cancer Res.*, **43**: 2454s.
- St. Clair, W. H., Billings, P. C., Carew, J. A., McGandy, C. K., Newberne, P. and Kennedy, A. R. 1990. Suppression of dimethylhydrazine-induced carcinogenesis in mice by dietary addition of the Bowman-Birk protease inhibitor. *Cancer Res.*, **50**: 580.
- Shamsuddin, A. M., Ullah, A. and Chakravarthy, A. K. 1989. Inositol and inositol hexaphosphate suppress cell proliferation and tumor formation in CD-1 mice. *Carcinogenesis*, **10**: 1461.
- Shamsuddin, A. M., Elsayed, A. M. and Ullah, A. 1988. Suppression of large intestinal cancer in F344 rats by inositol hexaphosphate. *Carcinogenesis*, **9**: 577.
- Coward, L., Barnes, N. C., Stechell, K. D. R. and Barnes, S. 1993. Genistein, daidzein, and their  $\beta$ -glycoside conjugates: antitumor isoflavones in soybean foods from American and Asian diets. *J. Agric. Food Chem.*, **41**: 1961.

- Okura, A., Arakawa, H., Oka, H., Yoshinari, T. and Monden, Y. 1988. Effect of genistein on topoisomerase activity and on the growth of [Val 12]Ha-ras-transformed NIH 3T3 cells. *Biochim. Biophys. Res. Commun.*, **157**: 183.
- Peterson, G. and Barnes, S. 1991. Genistein inhibition of the human breast cancer cells: Independence from estrogen receptors and the multi-drug resistance gene. *Biochim. Biophys. Res. Commun.*, **179**: 661.
- Tiisala, S., Majuri, M-L., Carpen, O. and Renkonen, R. 1994. Genistein enhances the ICAM-1 and its counter-receptors. *Biochim. Biophys. Res. Commun.*, **203**: 443.
- 平山 雄. 1984. 豫防ガン學. 中外製藥株式會社, p.146.
- Benjamin, H., Storkson, J., Tallas, P. G. and Pariza, M. W. 1988. Reduction of benzo[ $\alpha$ ]pyrene-induced forestomach neoplasms in mice given nitrite and dietary soy sauce. *Fd. Chem. Toxic.*, **26**: 671.
- Benjamin, H., Storkson, J., Nagahara, A. and Pariza, M. W. 1991. Inhibition of benzo[ $\alpha$ ]pyrene-induced mouse forestomach neoplasia by dietary soy sauce. *Cancer Res.*, **51**: 2940.
- Nagahara, A., Benjamin, H., Storkson, J., Krewson, J., Sheng, K., Liu, W. and Pariza, M. W. 1992. Inhibition of benzo[ $a$ ]pyrene-induced mouse forestomach neoplasia by a principal flavor component of Japanese-style fermented soy sauce. *Cancer Res.*, **52**: 1754.
- Nunomura, N., Sasaki, M., Asao, Y. and Yokotsuka, T. 1976. Isolation and identification of 4-hydroxy-2(or 5)-ethyl-5(or 2)-methyl-3(2H)-furanone. *Agric. Biol. Chem.*, **40**: 491.
- 최홍식, 이정수, 문갑순, 박건영. 1993. 양조간장에서 분리한 갈색물질의 항산화성. *한국영양식량학회지*, **22**: 565.
- 박건영, 문숙희, 백형석, 최홍식. 1990. 된장의 Aflatoxin B<sub>1</sub>에 대한 항돌연변이 효과. *한국영양식량학회지*, **19**: 156.
- Hong, S. S., Chung, K. S., Yoon, K. D. and Cho, Y. J. 1996. Antimutagenic effect of solvent extracts of Korean fermented soybean products. *Foods and Biotechnology*, **5**: 263.
- Charmichael, J., Degraff, W. G., Gazdar, A. F., Minna, J. D. and Michell, J. B. 1987. Evaluation of a tetrazolium based semiautomated colorimetric assay, assessment of chemosensitivity testing. *Cancer Res.*, **47**: 936.
- 남상해, 양민석. 1995. 산국으로부터 항암활성 성분의 분리. *한국농화학학회지*, **38**: 273.
- 이병우, 유익제, 유무영, 황우익, 최춘언. 1995. 초산균체 추출물의 *in vitro*계 암세포 증식 억제 효과. *한국식품과학회지*, **27**: 445.
- 윤기도, 권동진, 홍석산, 김수일, 정건섭. 1996. 대두 및 대두발효식품의 항돌연변이성. *한국산업미생물학회지*, **24**: 525.

(Received 6 May 1997)